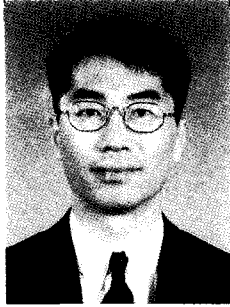


동물학논단

포유동물 발생의 유전학적 연구: 역유전학(reverse genetics)적 방법



이 건 수

1982 서울대학교 동물학과 (학사)
 1984 서울대학교 동물학과 (석사)
 1992 미국 텍사스 주립 의과대학 (박사)
 1993~1998 미국 콜롬비아 대학 (박사후 연구원)
 1998~현재 서울대학교 분자생물학과 조교수

생물학이 지향하는 목표중의 하나가 생명현상의 기작을 이해하려는 것이라고 간주했을때, 유전학은 유전자에 초점을 맞추어 생명현상을 이해하려는 시도라고 생각해 볼 수 있겠다. 즉, 생명현상에 참여하는 유전자 각각의 역할을 분석해감으로써 종국에는 특정 생명현상의 전체적인 기작을 이해하고자 하는 방법론이다.

변이개체(mutant)를 이용한 연구는 유전학적인 연구방법에 매우 중요한 위치를 차지한다. 이 때문에 초파리(*Drosophila*)나 선형동물(*C. elegans*), 그리고 최근에는 어류(zebra fish)등, 돌연변이(spontaneous mutation)가 만들어지기 쉽고 관찰하기에 용이한 실험동물들이 유전학 연구에 애용되어왔다. 전통적인 유전학적 연구방법은 변이개체의 표현형을 관찰하고, 변이를 유발하는 유전자들을 찾아가는 것이었다. 또한 관찰된 표현형을 감춰지게 만드는 변이(suppressor mutant)를 찾아서, 이 새로운 변이의 원인이 되는 유전자를 같은 방법으로 찾아가기도 한다. 그런데 최근에 들어서는 먼저 유전자를 찾고, 이 유전자에 변이를 일으켜 표현형을 관찰하는, 즉, 전통적인 유전학적 방법과는 반대되는 방향으로 연구를 진행시키

기도 한다. 이를 전통적인 연구방향과 반대 방향으로 연구를 진행한다고 하여 역유전학(reverse genetics)적인 방법이라고 일컫는다.

포유동물을 대상으로 한 유전학적 연구에서도 변이물질 투여에 의해 돌연변이를 유도하고, 흥미있는 변이를 일으킨 유전자를 찾아가는 전통적인 유전학적방법이 때로는 사용되어지기도 하지만(King et al., 1997), 대부분의 연구는 역유전학적 방법이 주류를 이루어왔다. 즉, (1) 특정 생명기작에 참여하는 유전자를 찾아내고, (2) 찾아진 유전자의 구조 및 발현양상을 통하여 유전자가 만들어내는 단백질의 기능을 추정하며, (3) 유전자의 변이로 말미암은 개체의 표현형을 관찰함으로써 그의 기능을 확인하는 패러다임(paradigm)을 따른 연구가 많이 보고되었다. 이렇듯 역유전학적 방법을 따르는 연구가 활발한 이유는 포유동물에서는 돌연변이 개체를 얻기가 극히 어렵기 때문이다. 생쥐의 경우 지금까지 약 1,000여 종류의 자연 돌연변이(spontaneous mutant)가 보고되었다(Bedell et al., 1997a). 하지만 이 숫자는 약 10만개로 추산되는 포유동물의 유전자들을 연구하기에는 턱없이 부족하다. 그러므로 포유동물의 경우는 유전자의 동정을 우선으로 하는 역유전학적 방법이 보편화 되었다고 할 수 있겠다.

역유전학적 연구방법의 첫 단계는 유전자의 동정이라 할 수 있다. 유전자를 찾는다는 지금까지 많은 방법이 소개되어 왔다. 그중 포유동물의 유전학 연구에서 빈번하게 쓰이는 방법은 다른 실험동물에서 동정된 유전자와 구조가 비슷한 유전자를 포유동물의 cDNA library로부터 찾아내는 방법이다. 즉, 다른 동물에 있는 유전자와 구조가 비슷하면 그들의 기능도 유사할 것이라는 가정하에 효모, *C. elegans*, 초파리 등에서 연구된 유전자들과 비슷한 구조를 가진 포유동물 유전자들을 동정해왔다(Rhee and Wolgemuth, 1997). 특히 사람을 비롯, 여러 실험동물의 게놈(genome)의 염기

배열을 완전히 밝혀지는 2000년대 초에는 유전자의 동정이 주로 컴퓨터 단말기에서 이루어지는 경우가 점점 늘어날 것으로 예상된다(Schuler et al., 1996).

일단 유전자가 동정되면 그 기능을 유추하는 작업이 뒤를 잇는데, 유전자가 담고 있는 단백질의 일차 구조를 살펴보면 그 기능을 예측할 수 있는 경우가 많다. 예를 들어 단백질 인산화 효소(protein kinase)들은 특징적인 기능결절(functional domain)들이 그들의 일차구조에서 발견되어 진다(Hanks and Hunter, 1995). 유전자의 발현 양상을 조사해보는 작업 또한 기능을 유추하는데 매우 유용하다. 생명체의 유전자는 그 기능이 요구되는 세포에서만 발현된다는 일반적인 전제하에서, 유전자 발현의 조직 및 발생단계 특이성을 조사하게 된다. 이를 테면 연구하고 있는 유전자가 세포분열이 왕성한 조직에서만 특이하게 발현된다면, 그 유전자의 기능은 세포 분열과 연관되어 있다고 유추할 수 있다(Wolgemuth et al., 1995).

약 10년전에 개발된 동형 재조합(homologous recombination)을 이용한 인위변이 생쥐(knockout mouse)를 만드는 방법은 유전자전이 생쥐(transgenic mouse) 제작 방법에 이은, 커다란 변혁을 일으킨 중요한 기술적 진전이였다(Capecchi, 1994). 연구하고자 하는 유전자에 변이를 유발시키도록 고안된 벡터 DNA를 세포에 넣고, 넣어진 벡터가 동형재조합을 통해 의도한 유전자 자리에 대체되어지고, 유전자 대체가 일어난 바로 그 세포로부터 생쥐를 발생시킴으로써 특정 유전자에 인위적으로 변이가 유발된 생쥐를 제작하게 된다. 이렇게 만들어진 인위변이 생쥐의 표현형을 관찰함으로써 생체내에서의 유전자의 기능을 확인하고, 또한 밝혀지지 않았던 기능도 알아낼 수 있게 된다. 예를 들어, 원암유전자(proto-oncogene)의 하나인 *c-mos*가 제거된 생쥐는 의외로 난자 성숙이 일어나지 않고 단위발생(pathenogenesis)률이 증가함이 관찰되었다(Hashimoto et al., 1994; Colledge et al., 1994). 이 결과로 *c-mos*는 생체내에서 자성 생식세포 발생에 결정적인 역할을 담당함을 이해하게 되었다. 인위변이 생쥐의 제작은 급속도로 보편화되어 90년대 초만 해도 매년 십여건의 인위변이 생쥐의 제작이 보고되었던 것

이 이제는 한해 수백건이 보고되어지고 있다(Brandon et al., 1995).

인위변이 생쥐 제작 기술은 한걸음 더 나아가 최근에는 특정 유전자 제거의 시기 및 조직들을 제한할 수 있게 되었다. 조건부 인위변이 생쥐(conditional knockout mouse)이라 일컫는 이 방법은 Cre라는 재조합효소(recombinase)가 *loxP*라는 특정 염기배열을 인식하여 재조합을 일으키는 원리를 사용하는 것으로, 제거하고 싶은 유전자 앞뒤에 *loxP*를 넣은 생쥐를 제작하고, Cre 유전자가 원하는 시기와 조직에만 제한적으로 발현되게 조작된 유전자 전이 생쥐(Cre expressing-transgenic mouse)와 교배시킴으로써 특정유전자가 생쥐의 일부 제한된 세포에만 제거되게 만드는 기술이다(Rossant and Nagy, 1995). 예를 들어, NMDA 수용체(N-methyl-D-aspartate receptor)가 제거된 생쥐는 탄생 즉시 사망한다(Li et al., 1994; Forrest et al., 1994). 하지만 NMDA 수용체 유전자가 조건부 인위변이에 의해 생쥐의 해마(hippocampus)부분에만 제거되면, 생쥐는 정상적으로 출생하지만 학습과 기억능력이 현격히 저하되었음을 관찰할 수 있었다(Tsien et al., 1996). 이는 NMDA 수용체는 생명을 유지하는데 필요한 여러가지 결정적인 조절기능에 참여하지만, 특히 해마에서는 학습과 기억에 중요한 역할을 담당함을 말해주고 있다. 또한 제거된 유전자 자리에 다른 유전자를 대체하여 넣는 방법(knock-in method)도 응용되고 있다(Wang et al., 1996).

위에서도 살펴보았듯이 인위변이 생쥐 제작이 가능해 짐으로써, 생쥐, 즉 포유동물을 대상으로 하는 유전학적 연구가 더욱 유용한 방법으로 각광받게 되었다. 포유동물 유전학은 다른 실험동물을 대상으로 하는 연구보다는 더 많은 시설이 요구되고 연구기간도 상대적으로 길다. 그럼에도 불구하고 포유동물 유전학이 중요함은, 바로 사람이 포유동물이기 때문일 것이다. 생물학을 비롯한 모든 학문이 지향하는 바가 인류의 행복과 복지라고 생각할 때, 사람과 유사한 유전체계를 가진 생쥐를 이용한 연구는 질병 원인 규명과 치료에 밀접하게 응용될 수 있다. 즉, 인위변이 생쥐는 유전자의 기능 연구뿐 아니라, 특정 질병의 치료법을 개발해 내는 실험동물로도 사용될 수

있다(Bedell et al., 1997b). 예를 들어 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)을 유발하는 저밀도지단백질 수용체(low density lipoprotein receptor)가 제거된 생쥐는 고혈압 치료법의 개발에 응용될 수 있다(Ishibashi et al., 1993). 결론적으로, 포유동물을 대상으로 하는 유전학적인 연구는 최근들어 생물학의 여러 분야들과 밀접한 관계를 지어가며 활발히 자리매김을 해가고 있다.

참 고 문 헌

- Bedell, M. A., D. A. Largaespada, N. A. Jenkins and N. G. Copeland (1997a). Mouse models of human disease. Part I: techniques and resources for genetic analysis in mice. *Genes. Dev.* **11**:1-10.
- Bedell, M. A., D. A. Largaespada, N. A. Jenkins and N. G. Copeland (1997b). Mouse models of human disease. Part II: recent progress and future directions. *Genes. Dev.* **11**:11-43.
- Capecchi, M. R. (1994). Targeted gene replacement. *Sci. Am.* **270**:52-59.
- Colledge, W. H., M. B. Carlton, G. B. Udy and M. J. Evans (1994). Disruption of c-mos causes parthenogenetic development of unfertilized mouse eggs. *Nature* **370**:65-68.
- Forrest, D., M. Yuzaki, H. D. Soares, L. Ng, D. C. Luk, M. Sheng, C. L. Stewart, J. I. Morgan, J. A. Connor and T. Curran (1994). Targeted disruption of NMDA receptor 1 gene abolishes NMDA response and results in neonatal death. *Neuron* **13**:325-38.
- Hanks, S. K. and T. Hunter (1995). Protein kinases 6. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification. *FASEB J.* **9**:576-596.
- Hashimoto, N., N. Watanabe, Y. Furuta, H. Tame-moto, N. Sagata, M. Yokoyama, K. Okazaki, M. Nagayoshi, N. Takeda, Y. Ikawa, et al (1994). Parthenogenetic activation of oocytes in c-mos-deficient mice. *Nature* **370**:68-71.
- Ishibashi, S., M. S. Brown, J. L. Goldstein, R. D. Gerard, R. E. Hammer and J. Herz (1993). Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. *J. Clin. Invest.* **92**:883-893.
- King, D. P., Y. Zhao, A. M. Sangoram, L. D. Wilsbacher, M. Tanaka, M. P. Antoch, T. D. Steeves, M. H. Vitaterna, J. M. Kornhauser, P. L. Lowrey, F. W. Turek and J. S. Takahashi (1997). Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* **89**:641-653.
- Li, Y., R. S. Erzurumlu, C. Chen, S. Jhaveri and S. Tonegawa (1994). Whisker-related neuronal patterns fail to develop in the trigeminal brainstem nuclei of NMDAR1 knockout mice. *Cell* **76**:427-37.
- Rhee, K. and D. J. Wolgemuth (1997). The NIMA-related kinase 2, Nek2, is expressed in specific stages of the meiotic cell cycle and associates with meiotic chromosomes. *Development* **124**:2167-77.
- Rossant, J and A. Nagy (1995). Genome engineering: the new mouse genetics. *Nat. Med.* **1**: 592-594.
- Schuler, G. D., M. S. Boguski, E. A. Stewart, L. D. Stein, G. Gyapay, K. Rice, R. E. White, P. Rodriguez-Tome, A. Aggarwal, E. Bajorek, S. Bentolila, B. B. Birren, A. Butler, A. B. Castle, N. Chiannikulchai, A. Chu, C. Clee, S. Cowles, P. J. Day, T. Dibling, N. Drouot, I. Dunham, S. Duprat, C. East, T. J. Hudson, et al (1996). A gene map of the human genome. *Science* **274**:540-546.
- Tsien, J. Z., P. T. Huerta and S. Tonegawa (1996). The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* **87**:1327-1338.
- Wang, Y., P. N. Schnegelsberg, J. Dausman and R. Jaenisch (1996). Functional redundancy of the muscle-specific transcription factors Myf5 and myogenin. *Nature* **379**:823-825.
- Wolgemuth, D. J., K. Rhee, S. Wu and S. E. Ravnik (1995). Genetic control of mitosis, meiosis and cellular differentiation during mammalian spermatogenesis. *Reprod. Fertil. Dev.* **7**:669-83.